ERSTBESCHREIBUNG PSYCHROPHILER AEROBER SPORENBILDNER DES GENUS BACILLUS AVIÄRER HERKUNFT

Johann Baptist Hartmann

München 1981

Aus der Klinik für Innere Krankheiten der Tiere
Lehrstuhl für Krankheiten des Hausgeflügels, der
Zier- und Zoovögel der Ludwig-Maximilians-
Universität München

Vorstand: Prof. Dr. I. Gylstorff

ERSTBESCHREIBUNG PSYCHROPHILER AEROBER SPOREN-BILDNER DES GENUS BACILLUS AVIÄRER HERKUNFT

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig - Maximilians - Universität
München

von
Johann Baptist Hartmann
aus
Oberried

München 1981

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Referent: Prof. Dr. I. Gylstorff

Korreferent: Prof. Dr. P. A. Bachmann

Tag der Promotion: 27. Februar 1981

UNIV. LEIDEN BIBL.

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.0	EINLEITUNG	1
2.0	LITERATUR	2
2.1	Definition der aeroben Sporenbildner	2
2.2	Differenzierung der aeroben Sporenbildner	5
2.2.1	Morphologie	8
2.2.2	Physiologie	11
2.2.2.1	Abbau von Kohlenhydraten	11
2.2.2.2	Thermoresistenz	12
2.2.2.3	Hämolyse und Lezithinase	13
2.2.2.4	Essentielle Ernährungsfaktoren	13
2.2.2.5	Ergänzende Methoden zur Identifizierung und Charakterisierung der Bazillenspezies	14
2.3	Bazillen aus dem oberen Respirationstrakt von Vögeln	15
2.4	Pathogenität von Bazillen	16
3.0	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	20
3.1	Versuchsplan	20
3.2	Material und Methodik	22
3.2.1	Herstellung der Nährmedien für die taxonomischen Untersuchungen	22
3.2.2	Herstellung einer Keimsuspension für die experimentelle Infektion	30
3.2.3	Experimentelle Infektion von SPF-Eintagsküken	30
3.2.4	Experimentelle Infektion von SPF-Junghähnen	32
3.2.5	Sektionsmodus und Versuch der Keimrückisolierung	32
4.0	ERGEBNISSE	34
4.1	Keimdifferenzierung	34

		Seite
4.1.1	Morphologie	34
4.1.2	Biochemie	38
4.2	Tierversuch	49
5.0	DISKUSSION	50
6.0	ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY	55
7.0	LITERATURVERZEICHNIS	57

1.0 EINLEITUNG

Bei Untersuchungen über die Nasenflora von einigen gesunden Psittaciformesarten wurden von SAILSTORFER (1979) grampositive Stäbchen isoliert, die sich durch bakteriologische Routinetests mit Sicherheit keiner der in Frage kommenden Bakterienfamilien zuordnen ließen.

Die Keime, die bei Zimmertemperatur zum Teil ein gelbliches Pigment bilden, produzieren Katalase, sind bis auf zwei Ausnahmen unbeweglich und zeigen auf Nutrientplatten mit 1% Natriumoxalatzusatz keine Versporung.

Es sollte nun mit am Institut durchführbaren Untersuchungsmethoden versucht werden, die Keime genauer zu klassifizieren und durch experimentelle Infektion bei SPF - Junghähnen und Hühnerküken Aufschluß über deren Pathogenität gewonnen werden.

2.0 LITERATUR

2.1 Definition der aeroben Sporenbildner

1872 wurde von Ferdinand COHN in einem Heuaufguß erstmals ein Keim entdeckt, der die Fähigkeit besaß, Sporen zu bilden. Dieser als Bacillus subtilis beschriebene " Heubazillus " bildete die Grundlage für eine eigene Familie in der Systematik der Bakterien.

In der 8. Ausgabe von BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology (1974) werden die aeroben Sporenbildner wie folgt beschrieben:

FAMILIE I. BACILLACEAE FISCHER 1895,
Sporenbildner sind stäbchenförmig, in einem Genus sphärisch. Ein Mycel wird nicht gebildet. Die Endosporen unterscheiden sich von der vegetativen Zelle dadurch, daß sie ein höheres Lichtbrechungsvermögen besitzen, sich weniger gut anfärben lassen, größere Widerstandskraft gegen Hitze und andere zerstörende Agentien haben und durch den Gehalt an " dipocolinic acid[1] " (5 - 10% der Trockensubstanz). Die Spore enthält eine zentrale Organelle (den sogenannten Kern), welche durch eine Wand aus Peptidoglykan eingeschlossen wird und einen äußeren Sporenmantel. Bazillen sind in der Mehrzahl der Fälle grampositiv. Die Keime sind durch laterale oder peritriche Begeißelung beweglich. Es kommen auch unbewegliche Stämme vor. Sie wachsen aerob, fakultativ anaerob oder obligat anaerob.

1= Pyridin-2,6-dicarbonsäure

Schlüssel zu den Genera der Familie Bacillaceae:

I. Zellen stäbchenförmig

A) aerob oder fakultativ anaerob, Katalase wird gewöhnlich produziert:

Genus I. Bacillus

B) mikroaerophil, Katalase wird nicht produziert:

Genus II. Sporobacillus

C) anaerob:

1. Sulfat wird nicht zu Sulfid reduziert:

Genus III. Clostridium

2. Sulfat wird zu Sulfid reduziert:

Genus IV. Desulfotomaculum

II. Zellen sphärisch und in Haufen:

Genus V. Sporosarcina

Genus I. Bacillus COHN 1872,

Zellen sind stäbchenförmig, gerade oder leicht gekrümmt, 0,3 - 2,2 x 1,2 - 7,0 µm und überwiegend beweglich; die typische Begeißelung ist lateral. Es erfolgt die Bildung von hitzebeständigen Endosporen und zwar pro Sporangiumzelle eine Spore. Die Sporulation wird durch Luftzutritt nicht unterdrückt. Die Zellen färben sich grampositiv oder nur im frühen Wachstumsstadium positiv oder negativ.

Chemoorganotrophie: der Stoffwechsel ist streng oxydativ, streng fermentativ oder beides bei verschiedenen Substraten. Das Endglied in der Atmungskette ist molekulares Oxygen, das bei einigen Spezies durch Nitrat ersetzt werden kann. Katalase wird von den meisten Spezies gebildet. Das Wachstum erfolgt streng aerob oder fakultativ anaerob.

Der DNS - Gehalt dieser Spezies reicht von 32 bis 62 Mol%.

Typspezies: B. subtilis (EHRENBERG 1840, COHN 1872)

Die aeroben Sporenbildner kommen ubiquitär vor. GIBSON (1944) hat für seine Untersuchungen Bazillen aus Erde, Staub, Heu und verschiedenem pflanzlichem Material, aus Milch, Brot, Lebensmittelkonserven und von täglichen Gebrauchsgegenständen isoliert. Durch Arbeiten von GOTTHEIL (1901), ISHIWATA (1901), BERLINER (1911, 1915), FORD (1916), SMITH et al. (1937, 1946, 1952), PROOM & KNIGHT (1950), HEIMPEL & ANGUS (1958), KRIEG (1961), SEIDEL (1963) und KUNDRAT (1963) gewinnt man einen Überblick über die Verbreitung und die Bedeutung der Bazillen. Neben wenigen Vertretern, die Krankheiten bei Warmblütern und Insekten hervorrufen können, besteht die hauptsächliche negative Bedeutung im Verderb von Lebensmitteln. Wegen der hohen Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Hitze, Desinfektions- und Konservierungsmittel, kommt es zur Keimvermehrung mit nachfolgendem Verderb von Fleisch- und Fischkonserven sowie Milch und Milchprodukten (KUNDRAT 1963, ELTER 1966).

2.2 Differenzierung der aeroben Sporenbildner

Einen ersten Überblick über das Genus Bacillus gaben LAWRENCE & FORD (1916) und LAUBACH et al. (1916). Weil aber damals das Wissen über die verschiedenen Wachstumsstadien und die biologische Variationsbreite innerhalb einer Bakterienspezies noch mangelhaft war und weil weniger Differenzierungstests bekannt waren, blieb das Werk ziemlich unvollständig (SMITH et al. 1952). So wurde in den folgenden Jahrzehnten eine große Anzahl neu entdeckter Bazillen beschrieben, die sich aber meist nicht in das vorhandene Schema einordnen ließen. Mit zunehmender Verbesserung der bakteriologischen Untersuchungsmethoden wurden dann auch neue Richtlinien zur Differenzierung der Bazillen aufgestellt (SMITH & CLARK, 1936, GIBSON & TOPPING, 1938, GIBSON, 1944, SMITH et al. 1946, 1952, KNIGHT & PROOM, 1950, , BURDON, 1956, SEIDEL, 1963 und WOLF & BARKER, 1968).

Das große Problem bei der Differenzierung der Bazillen liegt in der hohen Variabilität ihrer morphologischen und physiologischen Unterscheidungsmerkmale. Bei SMITH et al. (1952) und in BERGEY´S Manual(1974) werden auch asporogene Varianten der Bazillen beschrieben.

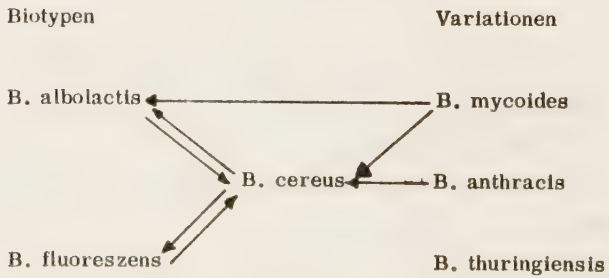
SMITH et al.(1952) berichten, daß fast jedes Differenzierungsmerkmal gewissen Variationen unterworfen ist. Sie sind deshalb der Ansicht, daß nur eine größere Anzahl von Eigenschaften ein für jede Spezies charakteristisches Muster ergibt. Dabei überlappen sich natürlich die Muster von verwandten Keimen.

Zu erheblichen taxonomischen Problemen führte es, daß gewisse Bazillenspezies eine für ihre Differenzierung charakteristische Eigenschaft durch Kulturpassagen und Lagerung verloren und sich dadurch nicht mehr von anderen Spezies unterschieden. CLARK & SMITH (1939)

stellten fest, daß der B. niger bis auf die Fähigkeit ein Medium, das Tyrosin enthält, schwarz zu färben, identisch ist mit dem B. subtilis. Auch durch spontane Mutationen kann ein Keim charakteristische Unterscheidungsmerkmale verlieren.

SMITH et al. (1952) schreiben, daß die damals als Spezies bezeichneten B. albolactis, B. fluoreszens, B. anthracis und B. thuringiensis sich nur durch jeweils eine zusätzliche Charaktereigenschaft (beim B. thuringiensis sind es zwei) vom B. cereus unterscheiden. Alle diese zusätzlichen Eigenschaften, wie die Fermentation von Lactose, das grüngelbliche fluoreszierende Pigment, das rhizoide Wachstum, die Pathogenität für Warmblüter und Insekten und die kennzeichnende Lage der Spore im Sporangium können bis auf letztgenannte Fähigkeit verschwinden, so daß sich diese Keime nicht mehr vom B. cereus unterscheiden. SMITH et al. (1952) unterscheiden hierbei zwischen Biotypen und Variationen, wobei den Biotypen das spezielle Charaktermerkmal nur reversibel abhanden kommt.

Figur 1: Biotypen und Variationen von B. cereus nach SMITH et al. (1952)



Nach BUCHANAN et al. (1948) ist eine Variation ein Keim, der Abweichungen in einigen Eigenschaften von der Elternkultur zeigt. Es ist deshalb oft sehr schwierig oder gar unmöglich, frisch isolierte Stämme einer bestimmten Spezies innerhalb des Genus Bacillus zuzuordnen.

In BERGEY´S Manual (1974) wird das Genus Bacillus in zwei Gruppen eingeteilt:
Gruppe I umfaßt 22 Spezies, die allgemein als solche anerkannt werden. Ihre genaue Abgrenzung ist oft nicht ganz klar, aber es gibt Informationen über Variationen innerhalb der Gruppe und über Organismen, die unterscheidbar sind, aber nicht stark differieren.
Gruppe II enthält 26 Spezies, die bisher noch nicht genau untersucht worden sind.

2.2.1 Morphologie

Die Bacillaceen besitzen einen charakteristischen Phasenwechsel mit verschiedenen Formen:

I. durch Teilung sich vermehrende Bacillen

II. ruhende Sporen

Da die vegetativen Formen, abgesehen von den durch ihre Größe herausragenden Spezies B. megaterium und B. cereus, morphologisch kaum Unterscheidungsmerkmale aufweisen, wird zur Differenzierung die Form der Spore und ihr Größenverhältnis zur Sporenmutterzelle herangezogen.

SMITH et al. (1952) haben mittels dieser Charakteristik das Genus Bacillus in drei Gruppen unterteilt:

Gruppe I: Sporangium eindeutig nicht aufgetrieben

Gruppe II: Sporangium durch ovale Sporen deutlich aufgetrieben

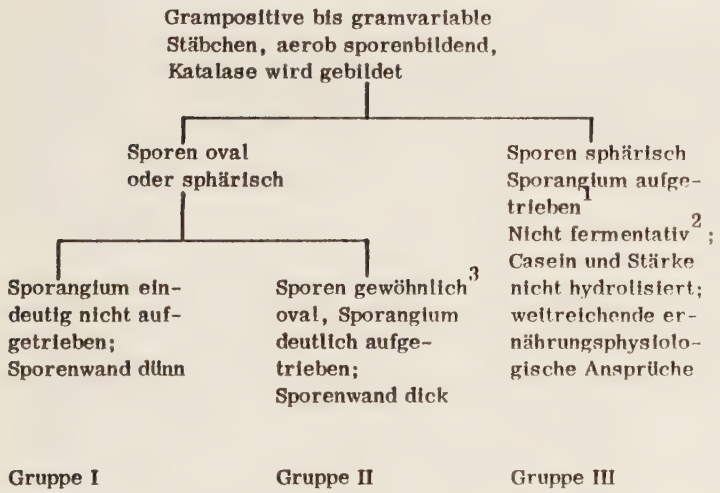
Gruppe III: Sporangium durch runde Sporen aufgetrieben

Die Verfasser konnten anhand dieses Schemas bis auf die Spezies B. coagulans alle Keime dieses Genus in die drei Gruppen unterteilen. Bei B. coagulans gibt es Vertreter, bei denen die Sporen die Sporangien nicht auftreiben und solche, die sie auftreiben. Sie ordneten diese Spezies deshalb beiden morphologischen Gruppen I und II zu. SMITH et al. (1952) stellten auch fest, daß etwa 65% der damals bekannten Bazillen zur Gruppe I, 30% zur Gruppe II und nur 5% zur Gruppe III gehörten.

IYER & BHAT (1955) haben diese Einteilung etwas modifiziert, da sie feststellten, daß es in der morphologischen Gruppe I unter Umständen auch zu Auftreibungen des Sporangiums kommen kann.

WOLF & BARKER (1968) fanden die morphologische Unterscheidung der Gruppen II und III problematisch. Wegen dieser Schwierigkeiten führten sie neue Kriterien für die Einteilung dieser beiden Gruppen sowie für Gruppe I ein.

Figur 2: Morphologische Einteilung der Bazillen nach WOLF & BARKER (1968)



1) Einige Stämme zeigen runde Sporen in einem nicht aufgetriebenen Sporangium.
2) Stämme, die ein positives Ergebnis zeigen, werden unter Gruppe II behandelt.
3) inclusive Stämme, die runde Sporen haben, aber biochemisch aktiv sind (z.B. fermentativ und caseolytisch).

In BERGEY´S Manual (1974) wird mit Rücksicht auf diese Unterscheidungsschwierigkeiten das Genus Bacillus nicht mehr in die morphologischen Gruppen eingeteilt. Dort dienen diese Kriterien nur noch zur allgemeinen Speziesdifferenzierung, wobei auch auf asporogene Varianten hingewiesen wird. Zusätzlich wird dort auch noch die Lage der Spore im Sporangium (zentral, subterminal und terminal) zur Unterscheidung herangezogen.

Ein wichtiges Merkmal zur Identifizierung der Spezies B. cereus und B. megaterium ist nach SMITH et al. (1952) und WOLF & BARKER (1968) deren Fettspeicherungsvermögen. Sie erscheinen bei der morphologischen Untersuchung unter dem Lichtmikroskop vakuolisiert.

2.2.2 Physiologie

Wie bereits erwähnt, leidet die Differenzierung des Genus Bacillus an dem Variationsreichtum der einzelnen Spezies. Dies verdeutlicht auch die Tabelle zur ersten Differenzierungsstufe von grampositiven Bakterien nach COWAN & STEEL (1974), wo asporogene Varianten gleiche Ergebnismuster wie Corynebakterien, Listerien und Rothia haben können.

Nach GORDON et al. (1973) zeigen die Bazillen nicht einmal ein einheitliches Verhalten bei der Gramfärbung. Ihr Spektrum reicht von grampositiv über gramvariabel bis gramnegativ. So sind laut GORDON et al. (1973) circa 20% der Bazillen der Gruppe II nach sechsstündiger Bebrütung gramnegativ.

Grundsätzlich gilt, daß Bazillen Katalase produzieren und in der überwiegenden Mehrzahl cytochromoxydasenegativ sind. Es besitzen nur zwei Spezies (B. alvei und B. laterosporus) die Fähigkeit, Indol zu bilden.

2.2.2.1 Abbau von Kohlenhydraten

Spezies des Genus Bacillus können Glucose oxydativ, fermentativ oder gar nicht abbauen. Beim Abbau wird Säure produziert, wobei es auch zur Gasbildung kommen kann. Nach SMITH et al. (1952) sind viele dieser Keime wegen ihrer streng proteolytischen Natur nicht in der Lage, genügend Säure zu bilden, um die vom organischen Stickstoff gebildeten alkalischen Abbaustoffe zu neutralisieren. Deshalb wird für diese Keime ein Medium mit anorganischem Nitrogen zur Untersuchung des Kohlenhydratabbaus benötigt.

SMITH et al. (1952) haben versucht, Negativvarianten innerhalb einer Spezies durch Passagen auf entsprechenden kohlenhydrathaltigen Nährböden zum Abbau des jeweiligen Zuckers anzuregen. Die meisten dieser Stämme gewannen, oft erst nach mehrmonatigen Passagen, die Fähigkeit wieder, den entsprechenden Zucker abzubauen. Es ist daher verständlich, daß der Kohlenhydratabbau nur begrenzten Wert für die Identifizierung von Bazillenspezies hat (SMITH et al. 1952, KNIGHT & PROOM,1950, SEIDEL,1963).

2.2.2.2 Thermoresistenz

Es gibt innerhalb des Genus Bacillus Spezies, deren vegetative Phase bei höheren Temperaturen als die Körpertemperatur von Warmblütern vermehrungsfähig ist. Diese Fähigkeit kann bis zu einem gewissen Grad zu diagnostischen Zwecken herangezogen werden.

Nach WOLF & BARKER (1968) ist in der morphologischen Gruppe I nur die Spezies B. coagulans in der Lage, bei einer Temperatur von 60° C zu wachsen und in der morphologischen Gruppe II nur B. stearothermophilus noch bei 65° C zum Wachstum fähig. Nach der Ansicht der Verfasser reicht dieses Kriterium aus, um die beiden Spezies innerhalb der jeweiligen Gruppe zu identifizieren. SMITH et al. (1952) haben jedoch festgestellt, daß nur etwa 30% ihrer B. coagulans - Stämme bei 60° C noch Wachstum zeigten, dagegen aber 100% ihrer B. stearothermophilus - Stämme. Aus diesem Grund ist ihrer Meinung nach die Thermoresistenz zur Identifizierung der B. coagulans - Stämme nur beschränkt tauglich. Allerdings wachsen bei RICHTER (1981) aviäre B. coagulans - Stämme auch bei 65° C. Im mittleren Temperaturbereich von 28° C bis 45° C ist es wegen der Überlappung nicht möglich, temperaturbedingte Wachstumshemmungen zur Identifizierung heran-

zuziehen. Über das Verhalten der Bazillen im niedrigen Temperaturbereich von 0^{o} C bis 20^{o} C gibt es kaum Angaben in der Literatur. So werden bei LARKIN & STOKES (1967) vier Bazillus-Spezies beschrieben, die in der Lage sind, bei 0^{o} C Sporen zu bilden (B. psychrosaccharolyticus, B. insolitus, B. globisporus, B. psychrophilus). Von diesen wurden B. insolitus, B. globisporus und B. psychrophilus in BERGEY´S Manual (1974) aufgenommen.
(s. Tabelle 1).

2.2.2.3 Hämolyse und Lezithinase

Nach McGAUGHEY & CHU (1948) und CHU (1949) zeigen von allen Bazillenspezies nur B. cereus, B. anthracis und B. mycoides Lezithinaseaktivität. Diese " Egg - yolk - Reaktion " korreliert mit der Fähigkeit zur Hämolyse. Auch in BERGEY´S Manual (1974) werden keiner anderen Spezies diese Fähigkeiten zugesprochen. Dagegen berichtet SEIDEL (1963) von eingeschränkten Lezithinaseaktivitäten bei B. lentus, B. polymyxa, B. macerans, B. alvei, B. laterosporus, B. brevis und B. pantothenticus.

2.2.2.4 Essentielle Ernährungsfaktoren

KNIGHT & PROOM (1950) und PROOM & KNIGHT (1955) haben durch ernährungsphysiologische Untersuchungen den Bedarf der einzelnen Bazillenspezies an bestimmten Nährstoffen für das Wachstum erarbeitet, um eventuell damit einen Schlüssel zur Identifizierung zu gewinnen. Es zeigte sich, daß durch essentiellen Nährstoffbedarf allein eine Klassifizierung des Genus Bacillus nicht möglich ist, aber im Zusammenwirken mit anderen Untersuchungsmethoden stellen diese Tests

eine wichtige Ergänzung zur Differenzierung dar.
(s. Tabelle 2).

2.2.2.5 Ergänzende Methoden zur Identifizierung und Charakterisierung der Bazillenspezies

Folgende Methoden sind gebräuchlich:

- Wachstum bei verschiedenen NaCl - Konzentrationen
- Citrat als alleinige Kohlenstoffquelle
- Produktion von Acetylmethylcarbinol = Voges - Proskauer Test
- Hydrolyse von Stärke, Casein und Gelatine
- Reduktion von Nitrat zu Nitrit
- Ureaseaktivität
- Sensibilität gegenüber Lysozym

Nach SMITH et al. (1952) muß bei all diesen Tests berücksichtigt werden, daß es hierbei auch Variationen innerhalb der Spezies gibt.

" Generell ist zu sagen, daß eine Klassifizierung der aeroben Sporenbildner sehr mühsam ist, da nur wenig charakteristische, morphologische und physiologische Eigenschaften Ansatzpunkte für eine Unterscheidung geben. Viele Versuche, die einzelnen Spezies zu differenzieren, scheiterten an der großen Veränderlichkeit dieser Merkmale " (SEIDEL, 1963).

2.3 Bazillen aus dem oberen Respirationstrakt von Vögeln

Im Handbuch für Geflügelkrankheiten von 1929 beschreibt HEELSBERGEN folgende Bazillenspezies in der Rachenhöhle des Geflügels:

- B. subtilis
- B. subtilis var. niger
- B. mycoides
- B. megaterium

MEHLS (1939) isolierte bei seinen Untersuchungen über die Bakterienflora im Verdauungs- und Geschlechtstrakt des Huhnes folgende Bazillen aus der Rachenhöhle:

- B. mycoides
- B. subtilis var. niger

PRICE et al. (1957) isolierten bei ihren Untersuchungen aus dem Nasenraum fünf und aus der Trachea von Küken neun nicht weiter differenzierte Bazillenspezies. SMIBERT et al. (1960) konnten die aus der Nasenhöhle isolierten Bazillen als B. cereus und B. badius identifizieren.

SAILSTORFER (1979) konnte von der Nasenschleimhaut einiger gesunder Psittaciformesarten (20 Wellensittiche, 13 Agapornis fischeri, 20 Graupapageien, 14 Kakadus und 5 Kongopapageien) folgende Bazillenspezies isolieren:

- B. licheniformis (33x)
- B. cereus (12x)
- B. coagulans (5x)
- B. brevis (3x)
- B. megaterium (1x)
- B. macerans (1x)
- B. sp. nicht diff. (8x)

2.4 Pathogenität von Bazillen

In der Mehrzahl sind die Vertreter des Genus Bacillus apathogen. Es sind vor allem Saprophyten, die gelegentlich auch Lebensmittelverderb verursachen können (BISPING, 1973).

Beim Milzbrand gelang es Robert KOCH 1876 zum erstenmal, einen Mikroorganismus als Krankheitserreger nachzuweisen. Diese von B. cereus var. anthracis bei Warmblütern verursachte perakute bis subakute Infektionskrankheit spielt beim Geflügel kaum eine Rolle, da die hohe Körpertemperatur der Vögel eine Verminderung der Pathogenität und Virulenz des Keimes bewirkt. Die kritische Temperatur für Milzbrandbazillen liegt bei 42,5° C. Nach experimenteller peroraler Infektion bei gleichzeitigem Vorhandensein anderer resistenzmindernder Faktoren, kann B. anthracis bei Tauben, Hühnern, Enten, Dohlen und Sperlingen haften, nicht dagegen bei Bussarden, Geiern und Adlern. Die Kapselbildung gilt als wesentliches Pathogenitätsmerkmal. Die Kapseltoxine verursachen überwiegend Gefäßwandschädigungen, auch im Gehirn (ROLLE & MAYR, 1978).

Eine ganze Reihe von Bazillen ist pathogen für Insekten. 1901 isolierte ISHIWATA aus toten Larven der Seidenraupe den B. sotto. 1911 entdeckte BERLINER den Erreger der Schlaffsucht der Mehlmottenraupe. Dieser B. thuringiensis erlangte Bedeutung als biologisches Schädlingsbekämpfungsmittel in der Landwirtschaft. Eine gewisse Bedeutung für die Tiermedizin hat B. larvae als Erreger der amerikanischen Faulbrut bei den Honigbienen. Andere insektenpathogene Erreger wie B. popilliae und B. lentimorbus spielen eine geringere Rolle (HEIMPEL & ANGUS, 1958).

Tabelle 1: Wachstumstemperaturen von einigen Spezies der aerob sporenbildenden Bakterien

SMITH et al. (1952)

Spezies	Anzahl der Stämme	Anzahl der Kulturen bei								
		28°C	33°C	37°C	45°C	50°C	55°C	60°C	65°C	70°C
B. stearothermophilus	87	0	10	73	81	87	87	87	87	45
B. coagulans	73	53	73	73	73	72	66	23	0	
B. subtilis	154	154	154	154	150	105	17	0		
B. brevis	57	57	57	57	38	16	7	0		
B. circulans	55	55	55	51	18	6	1	0		
B. pumilus	65	65	65	65	64	43	0			
B. macerans	13	13	13	13	13	9	0			
B. cereus	50	50	50	50	23	0				
B. sphaericus	42	42	42	42	15	0				

Tabelle 2: Essentielle Nährstoffe für die untersuchten Stämme des Genus Bacillus KNIGHT & PROOM, 1950

Spezies	Anzahl der Stämme	Nährstoffe verbraucht				
		1	2	3	4	5
Morphologische Gruppe I						
subtilis	26	+	-	-	-	-
	1	-	+	-	-	-
subtilis var. aterrimus	2	+	-	-	-	-
subtilis var. niger	1	+	-	-	-	-
licheniformis	12	+	-	-	-	-
pumilus	19	+	-	-	+	-
	2	-	+	-	+	-
subtilis/pumilus-	2	+	-	-	-	-
Zwischenformen	2	+	-	-	+	-
coagulans	16	-	+	+	+	-
megaterium	11	+	-	-	-	-
cereus	13	-	+	-	-	-
cereus var. mycoides	10	-	+	-	-	-
megaterium/cereus-	2	+	-	-	-	-
Zwischenformen	4	-	+	-	-	-
anthracis	.	-	+	+	-	-
Morphologische Gruppe II						
polymyxa	13	+	-	-	+	-
macerans	5	+	-	+	+	-
brevis	9	-	+	-	-	-
	1	-	+	+	+	+

Spezies	Anzahl der Stämme	Nährstoffe verbraucht 1	2	3	4	5
alvei	4	-	+	+	-	-
	1	-	+	+	+	-
circulans	12	-	+	+	+	-
	6	nicht feststellbar				
circulans/alvei-	3	-	+	+	+	-
Zwischenformen	3	nicht feststellbar				
Morphologische Gruppe III						
sphaericus	6	-	+	+	-	-
	3	-	+	+	+	-
sphaer.var.fusiformis	10	-	+	+	+	-
pasteurii	4	+	+	+	-	-
	2	+	+	+	+	+
	2	-	+	+	+	-
	2	-	+	+	-	+

1) Ammoniak 2) Aminosäuren 3) Aneurin 4) Biotin
5) Nikotinsäure

Die Ergebnisse für Bacillus anthracis wurden von GLADSTONE (1939) und BREWER et al. (1946) übernommen.

3.0 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Versuchsplan

Zur Untersuchung kamen 28 Keimisolate, die bei vorangegangenen Untersuchungen durch SAILSTORFER (1979) in drei Gruppen eingeteilt worden waren und keinem Genus zugeordnet werden konnten.

Gruppe A enthält 6 grampositive Stämme, wovon die Stämme 62/2 und 63/2 aus Gelbhaubenkakadus (Cacatua sulphurea) und die Stämme 68/2, 69/1, 70/6 und 71/3 aus Weißhaubenkakadus (Cacatua alba) isoliert worden waren. Alle zeigten morphologisch und biochemisch ein einheitliches Verhalten.

Gruppe B enthielt 4 grampositive Stämme, die aus Graupapageien (Psittacus erithacus) isoliert worden waren. Diese Gruppe zeigte, obwohl morphologisch nicht einheitlich, Übereinstimmung in ihrem biochemischen Verhalten.

Gruppe C bestand aus 8 grampositiven Stämmen, die ihrer Herkunft nach, in ihrer Morphologie und in ihrem biochemischen Verhalten uneinheitlich waren. Isoliert wurden die Keime aus Wellensittich (Melopsittacus undulatus), Agapornide (Agapornis fischeri), Graupapageien (Psittacus erithacus), Kongopapagei (Poicephalus gulielmi gulielmi) und Weißhaubenkakadu (Cacatua alba).
Es sollte versucht werden, durch zusätzliche biochemische Untersuchungen eine nähere Charakterisierung der Stämme zu ermöglichen, und es sollte eine Pathogenitätstestung durchgeführt werden. Dazu wurden pro Stamm 30 SPF - Eintagshühnerküken experimentell intra-

peritoneal infiziert. Zusätzlich wurde aus jeder Keimgruppe ein Stamm zur Pathogenitätstestung an 6 Wochen alten SPF - Junghähnen ausgewählt.

3.2 Material und Methodik

Die Stämme wurden auf Nutrientagar (Difco 0001-01) - Schrägröhrchen mit Stopfen und Paraffin verschlossen, im Kühlschrank gelagert.

Für die Untersuchung wurden die Keime auf Blutplatten überimpft und durch Untersuchung von Einzelkolonien in Nativpräparaten im Phasenkontrast und nach Gramfärbungen auf ihre Reinheit geprüft. Circa alle 3 Monate wurde eine Passage durchgeführt, um die Lebensfähigkeit zu erhalten. Außerdem wurden die Originalkulturen im Kühlschrank aufgehoben und in Abständen über circa 1 Jahr morphologisch untersucht.

3.2.1 Herstellung der Nährmedien für die taxonomischen Untersuchungen

Blutplatten

Blood Agar Base (Difco 0045.01)
lt. Gebrauchsanweisung
4 g/ 1000 ml Agar (Difco 0140-01)
10% defibriniertes Rinderblut
Bebrütung 24 - 48 h bei 37°C

Kohlenhydratabbau unter Säurebildung:

Phenol-Red-Broth (Difco 0092-01)
lt. Gebrauchsanweisung
+ 1% des jeweiligen KH steril filtriert
Einstellung des Ausgangs-pH auf 7,4
Bebrütung und Überwachung der Reaktion bei 37°C 1 bis 7 Tage

Folgende Kohlenhydrate wurden getestet:

Arabinose
Cellobiose
Fructose
Galactose
Glycerol
Inosit
Lactose
Maltose
Mannit
Melezitose
Melibiose
Raffinose
Rhamnose
Ribose
Saccharose
Salicin
Trehalose
Xylose
(Alle von Merck)

Kohlenhydratabbau im Basalmedium nach SMITH, GORDON & CLARK (1952) (= ASS - Medium)

1 g Ammoniumhydrogenphosphat
0,2 g Kaliumchlorid
0,2 g Magnesiumsulfat
0,2 g Hefeextrakt
20 g Agar
ad 1000 ml Aqua dest.
4 ml Bromkresolpurpur, 0,2%
+ 1% des jeweiligen KH steril filtriert

Folgende Kohlenhydrate wurden getestet:

Arabinose

Glucose

Lactose

Mannit

Rhamnose

Nachweis der Art des Glucose-Abbaus (fermentativ oder oxydativ) mit Hilfe des O/F - Tests nach HUGH & LEIFSON (1953), modifiziert nach MANNHEIM (persönliche Mitteilung):

Phenol-Red-Broth (Difco 0092-01)

lt. Gebrauchsanweisung

4 g Agar / 1000 ml

1% Glucose (steril filtriert)

10 ml / Röhrchen, Stichbeimpfung

Beobachtung 4 Tage

Nachweis einer Cytochromoxydase:

N, N, N´, N´ -Tetramethyl - 1,4 Phenylen - Diamin - Dihydrochlorid (Flucka, Basel)

1% ige wässrige Lösung

davon 1 - 2 Tropfen auf Kultur

Ablesung innerhalb von 3 min.

Katalase: Objektträger - Test mit 3% iger H_2O_2 - Lösung

Beweglichkeit:

Heart-Infusion-Broth (Difco 0038-01)

lt. Gebrauchsanweisung

4 g Agar / 1000 ml (Bacto Agar, Difco 0140-01)

Stichbeimpfung des halbfesten Mediums

Ureasaktivität:

Urea Agar Base (Difco 0283-01)

lt. Gebrauchsanweisung

Citratverwertung nach KOSER (1923):

1 g Diammoniumphosphat

0,2 g Magnesiumsulfat

3 g Natriumcitrat

1 g Monokaliumphosphat

ad 1000 ml Aqua dest.

Citratverwertung nach CHRISTENSEN (1949):

3 g Natriumcitrat

0,2 g Glucose

1 g Kaliumhydrogenphosphat

5 g Natriumdichlorid

ad 1000 ml Aqua dest.

6 ml Phenolrot, 0,2% ig

pH-Einstellung auf 6,8 - 6,9

Beobachtung bis zu 6 Tagen

Wachstum bei 7% bzw. 10% NaCl - Gehalt:

Heart-Infusion-Broth (Difco 0058-01)

lt. Gebrauchsanweisung

+ 7% bzw. 10% NaCl

Bebrütung 3 Tage bei 37°C

Parallelabimpfungen unter Normalbedingungen bebrütet

Wachstum bei 10°C, 45°C und 65°C Bebrütungstemperatur:

Heart-Infusion-Broth (Difco 0038-01)

Lt. Gebrauchsanweisung

Bebrütung im Wasserbad mit entsprechender Temperatur 3 Tage

Parallelabimpfungen unter Normalbedingungen bebrütet

Nachweis von Acetoin (Voges-Proskauer Test):

Zusammensetzung des Mediums nach WINKLE (1955)

7 g Pepton aus Casein

5 g Kaliumhydrogenphosphat

5 g Glucose

ad 1000 ml Aqua dest.

20 min. im Dampftopf erhitzen

Nachweis des Acetoins, modifiziert nach O´MEARA (1931):

Kreatin (Monohydrat) (Merck Art. 5205)

+ ca. 5 ml 40% ige Natronlauge

Nachweis der Nitratreduktion:

Nitrat Bouillon (Merck Art. 10204)

lt. Gebrauchsanweisung

Nachweis des Nitrits mit Griess-Ilosvays-Reagenz (Merck Art. 9023) und

Nachweis des nicht reduzierten Nitrats durch Zinkpulver

(Da die Nitratröhrchen nur kurzzeitig haltbar sind, wurde die Bouillon vor dem Beimpfen kontrolliert).

Aesculinhydrolyse (COWAN & STEEL, 1974):

1 g Aesculin

0,5 g Eisen-III-Sulfat

Heart-Infusion-Broth (Difco 0038-01)

lt. Gebrauchsanweisung

ad 1000 ml

Hippurathydrolyse (COWAN & STEEL, 1974):

Phenol-Red-Broth (Difco 0092-01)

lt. Gebrauchsanweisung

ad 1000 ml

20 g Bacto Agar (Difco 0140-01)

10 g Hippursäure - Natriumsalz (Merck Art. 820648)

steril filtriert

Lipolyseaktivität in Tween 80 - Medium nach SIERRA (1957):

10 g Pepton

5 g NaCl

0,1 g $CaCl \cdot 1 H_2O$

20 g Agar

ad 1000 ml Aqua dest.

Hydrolyse von Stärke nach COWAN & STEEL (1974):

Nutrientagar (Difco 0001-01)

lt. Gebrauchsanweisung

+ 10 g / 1000 ml Stärke (Merck Art. 1252)

Auswertung mittels Lugol'scher Lösung

Gelatineverflüssigung nach WINKLE (1955):

Heart-Infusion-Broth (Difco 0038-01)

lt. Gebrauchsanweisung

ad 1000 ml

10 g Pepton

5 g NaCl

30 g Gelatine

im Dampftopf 3 x 20 min. erhitzt

Bebrütung und Beobachtung 6 Tage

Lezithinase - Aktivität nach COWAN & STEEL (1974):

Nutrientagar (Difco 0001-01)

10% steriles Egg-yolk (Oxoid)

Wachstum auf Tellurit-Nährböden und Reduktion von Tellurit nach COWAN & STEEL (1974):

Blood Agar Base (Difco 0045-01)

lt. Gebrauchsanweisung

4 g / 1000 ml Agar (Difco 0140-01)

10 % defibriniertes Rinderblut

16 ml K_2TeO_3, 2% ige Lösung in Aqua dest.

Indolbildung:

Phenol-Red-Broth (Difco 0092-01)

lt. Gebrauchsanweisung

Indolnachweis mit Kovacs-Reagenz (Merck Art. 9293)

Lysozymempfindlichkeit:

getestet auf Nutrientagarplatten (Difco 0001.01)

lt. Gebrauchsanweisung

Ausstreichen der Keime auf der Platte mittels Drygalski-Spatel

+ 1 Tropfen einer 0,001% igen Lysozymlösung

auf einen markierten Punkt der Platte.

Ablesung zwischen 24 und 48 h

Auswertung: s = sensibel: jede Lysis mit oder ohne gehemmter Kolonie im Lysisbereich

r = resistent: keine Lysis

Lysindecarboxylase nach COWAN & STEEL (1974):

LDC-Broth (Difco 0215-01)

lt. Gebrauchsanweisung

Röhrchen mit Gummistopfen verschlossen

Auswertung nach 3-tägiger Bebrütung

Mikroaerobes Wachstum:

auf Nutrientplatten (Difco 0001-01) im Brewer - Topf

auf 0,2 atm. ausgepumpt und mit Chaumette-Gas aufgefüllt.

Auswertung nach 3-tägiger Bebrütung

3.2.2 Herstellung einer Keimsuspension für die experimentelle Infektion

Die Keime wurden von Blutplatten in kleine Erlenmeyer - Kolben mit je 100 ml Heart-Infusion-Broth überimpft und 24 h bei 37° C bebrütet. Die in der Bouillon enthaltene Keimzahl wurde durch Röhrchentitration bestimmt. Die Reinheit der Kultur wurde durch Ausstrich auf Blutplatten und Untersuchung eines Nativpräparates überprüft.

3.2.3 Experimentelle Infektion von SPF - Eintagsküken

Pro Stamm wurden 30 Tiere infiziert. Sie erhielten 0,2 ml der Keimsuspension intraperitoneal verabreicht. Die Küken wurden isoliert in Drahtkäfigen gehalten. Sie erhielten Wasser und handelsübliches, pelletiertes Kükenalleinfutter ad libitum. Als Wärmequelle dienten Infrarotstrahler.

Tabelle 3a: Keimgehalt der zur experimentellen Infektion verwendeten Suspension

	Stamm	Titer
Gruppe A	62/2	10^8/ml
	63/2	10^7/ml
	68/2	10^7/ml
	69/1	10^6/ml
	70/6	10^8/ml
	71/3	10^7/ml
Gruppe B	42/1	10^6/ml
	46/2	10^6/ml
	46/6	10^7/ml
	55/9	10^5/ml
Gruppe C	1/7	10^7/ml
	30/1	10^6/ml
	40/4	10^6/ml
	45/3	10^7/ml
	52/6	10^5/ml
	52/7	10^6/ml
	57/5	10^6/ml
	73/4	10^6/ml

3.2.4 Experimentelle Infektion von SPF-Junghähnen

Die 6 Wochen alten Junghähne bekamen 0,2 ml Keimsuspension intramuskulär in die Pectoralismuskulatur verabreicht. Die zehn Tiere jeder Gruppe wurden unter den gleichen Haltungsbedingungen wie die Küken in Drahtkäfigen gehalten.

Tabelle 3b: Keimgehalt der zur experimentellen Infektion verwendeten Suspension

Gruppe	Stamm	Titer
A	69/1	10^9/ml
B	46/2	10^9/ml
C	1/7	10^7/ml

3.2.5 Sektionsmodus und Versuch der Keimrückisolierung

Jeweils zehn Hühnerküken wurden am zweiten, vierten und achten Tag nach der Infektion getötet und pathologisch-anatomisch untersucht. Für die Keimrückisolation wurden Herz, Leber, Milz, Niere und Dottersack steril entnommen und auf Blutagarplatten verimpft.

Jeweils fünf SPF-Junghähne kamen am vierten und am achten Tag post infectionem zur Untersuchung. Bei diesen Tieren wurden Herz, Leber, Milz, Niere und ein Teil des Brustmuskels entnommen und auf Blutagarplatten verimpft.

Die Platten wurden nach 24 h und nach 48 h abgelesen und verdächtige Keime, um Reinkulturen zu gewinnen, auf frischen Blutagarplatten passagiert.

Diese Kulturen wurden dann morphologisch im Nativpräparat und gramgefärbt mikroskopisch untersucht und teilweise, um die Identität sicherzustellen, biochemischen Tests unterzogen (O/F-Test, Beweglichkeit, Urease, Citrat, VP, Nitrat, Arabinose, Xylose, Mannit).

Von 10% der Versuchstiere wurden Teile der Leber zur histologischen Untersuchung in Bouin´scher Lösung fixiert und nach H.E. gefärbt.

4.0 ERGEBNISSE

4.1 Keimdifferenzierung

4.1.1 Morphologie

Es handelt sich um kleine bis mittelgroße Stäbchen, die im frühen Wachstumsstadium durchwegs grampositiv, in älteren Kulturen gramlabil sind. Die Keime der Gruppen A und B sind in ihrem Aussehen einheitlich und zwar mittelgroß und schlank. Bei den Stämmem der Gruppe C gibt es kleinere, etwas plumpere Formen (30/1 und 52/7), wobei auch die Größe innerhalb der Stämme geringgradig unterschiedlich sein kann. Bei Untersuchung im Phasenkontrast - Mikroskop sind keine Vakuolen und auch keine Begeißelung festzustellen.

Die Kolonien der Stämme der Gruppe A sind klein, konvex und haben einen glatten Rand. Nach 24 h im Brutschrank sind sie weiß und nach weiteren 24 h bei Zimmertemperatur bekommen sie eine leichte Gelbfärbung.

Die Kolonien der Stämme 42/1, 46/2 und 46/6 aus Gruppe B sind ebenfalls klein, flach bis konvex und mit glattem Rand. Nach 24 h im Brutschrank sind sie weißgrau und nach weiteren 24 h bei Zimmertemperatur weißgelb. Eine Ausnahme in der Koloniemorphologie dieser Gruppe macht der Stamm 55/9. Er bildet großflächige, flache, im Zentrum eingedellte Kolonien mit leicht gefranstem Rand. Außerdem war nach mehreren Passagen auf Blutplatten bei diesem Stamm eine Koloniepolymorphie festzustellen. Die Kolonien sind nach 24 h im Brutschrank grau und nach weiteren 24 h bei Zimmertemperatur

weiß.

Weniger einheitlich in der Koloniemorphologie zeigt sich die Gruppe C. Zwar sind auch hier alle Kolonien klein, aber doch von recht unterschiedlichem Aussehen. Die Kolonien des Stammes 1/7 sind konvex, mit gekerbtem Rand, nach 24 h im Brutschrank weißgrau und nach weiteren 24 h bei Zimmertemperatur hellgelb. Die Kolonien des Stammes 30/1 sind flach und haben einen gekerbten bis gefransten Rand. Sie sind nach 24 h im Brutschrank weißgrau und nach weiteren 24 h bei Zimmertemperatur weiß. Die Kolonien des Stammes 40/4 sind flach, mit gefranstem Rand, nach 24 h im Brutschrank gelbweiß und nach weiteren 24 h bei Zimmertemperatur ockergelb. Flach und mit gefranstem Rand sind auch die Kolonien des Stammes 45/3. Nach einem Tag im Brutschrank sind sie hellgrau und nach einem weiteren Tag bei Zimmertemperatur zitronengelb. Unterschiedliche Koloniefomen bilden die ursprünglich als sehr ähnlich beschriebenen Stämme 52/6 und 52/7. Der Stamm 52/6 bildet eine Kolonie mit gefranstem Rand, die nach 24 h im Brutschrank grauweiß und nach weiteren 24 h bei Zimmertemperatur weiß ist. Eine sehr kleine punktförmige Kolonie bildet der Stamm 52/7, wobei kein Pigment produziert wird. Der Stamm 73/4 bildet kleine, konvexe, speckige Kolonien mit glattem Rand, die nach 24 h im Brutschrank grauweiß und nach weiteren 24 h bei Zimmertemperatur grau sind.

Wie bereits in der Arbeit von SAILSTORFER (1979) erwähnt, bilden die Keime aller Gruppen auf Sporenplatten nach WINKLE (1955) keine Sporen. Nach einjähriger Lagerung im Kühlschrank auf Nutrientagarschrägröhrchen, die mit Stopfen und Paraffin verschlossen waren, bildeten fast alle Keime Sporen (Ausnahme: 70/6 und 52/7). In Heart - Infusion-Broth wurden die Sporen wieder zur Keimung angeregt. Die Keime wurden dann von den Röhrchen auf Blutplatten ausgestrichen

und auf ihre Identität untersucht.

Die Sporen aller Stämme sind rund oder oval und treiben die Sporenmutterzelle bei Anwendung der Kundrat´schen Methode nicht oder nur leicht auf. Ihre Lage im Sporangium ist uneinheitlich.

Nach den Kriterien von SMITH et al. (1952) und WOLF & BARKER (1968) lassen sich alle vorliegenden Keime der morphologischen Gruppe I zuordnen (s. Tabelle 4).

Tabelle 4 Ergebnisse der morphologischen Untersuchung

	Stamm	Form der Spore	Auftreibung des Sporangiums	Lage im Sporangium
Gruppe A	62/2	oval	(+)	terminal
	63/2	rund	-	zentral/subterminal
	68/3	oval	-	subterminal/terminal
	69/1	oval	(+)	terminal
	70/6	keine Sporenbildung nachweisbar		
	71/3	oval	-	zentral-terminal
Gruppe B	42/1	oval	-	terminal
	46/2	oval	-	zentral-terminal
	46/6	oval	(+)	terminal
	55/9	rund	-	terminal
Gruppe C	1/7	oval	(+)	terminal
	30/1	oval	+/(+)	terminal
	40/4	rund	-	zentral-terminal
	45/3	oval	(+)	terminal
	52/6	oval	(+)	terminal
	52/7	keine Sporenbildung nachweisbar		
	57/6	oval	(+)	terminal
	73/4	rund	-	zentral-terminal

4.1.2 Biochemie

Die untersuchten Stämme sämtlicher Gruppen zeigten ein fast einheitliches Verhalten bezüglich Beweglichkeit, Wachstum unter bestimmter Sauerstoffspannung, Katalase- und Cytochromoxydasebildung sowie der Säurebildung aus Glucose und dem O/F -Test nach Hugh-Leifson (s. Tabelle 5).

So ist die Mehrzahl der Stämme unbeweglich (Ausnahme: Stamm 57/6 und 73/4), wachsen alle unter aeroben, abgesehen von Stamm 55/9 auch unter mikroaeroben Bedingungen, aber nicht unter streng anaeroben Verhältnissen. Sie sind im Katalasetest alle positiv und im Cytochromoxydasetest negativ.

Unterschiede zeigen sie beim Abbau von Glucose. So können alle Stämme der Gruppe A aus Glucose Säure bilden, wobei nur der Stamm 62/2 Glucose lediglich oxydativ abbauen kann und nicht wie die anderen Vertreter dieser Gruppe fermentativ. Die Stämme der Gruppe B können Glucose überhaupt nicht abbauen. Die Stämme der Gruppe C spalten Glucose sowohl oxydativ als auch fermentativ (s. Tabellen 9, 10 und 11).

Alle Stämme der Gruppe A wachsen bei einer NaCl-Konzentration von 7% und 10%. Die Stämme der Gruppe C vermehren sich alle bei Anwesenheit von 7% NaCl, die Stämme 42/1 und 55/9 aber nicht mehr bei einer NaCl-Konzentration von 10%. Bei den Vertretern der Gruppe C war der Stamm 73/4 als einziger nicht in der Lage, bei einem NaCl-Gehalt von 7% zu wachsen. Bei einer NaCl-Konzentration von 10% waren die Stämme 52/7 und 73/4 zum Wachstum nicht mehr fähig (s. Tabelle 6).

Alle Stämme der drei Gruppen wachsen bei 10° C und bei 37° C Bebrütungstemperatur. Bei 45° C Bebrütungstemperatur wachsen aus Gruppe A der Stamm 69/1 und aus Gruppe C die Stämme 57/6, 40/4 und 73/4 nicht. Eine Vermehrung bei einer Bebrütungstemperatur von 65° C läßt sich bei keinem Vertreter der drei Gruppen nachweisen (s. Tabelle 6).

Kein Wachstum im Citrat-Medium nach Koser zeigten aus Gruppe A die Stämme 62/2 und 71/3, aus Gruppe B Stamm 46/6 und aus Gruppe C die Stämme 30/1, 52/6 und 52/7. Im Citratmedium nach Christensen wachsen aus Gruppe A Stamm 62/2 und aus Gruppe C die Stämme 52/6, 52/7, 57/5 und 73/4. Das bedeutet, daß die Stämme 62/2, 52/6 und 52/7 in keinem Fall in der Lage sind, Citrat als alleinige Kohlenstoffquelle zu verwerten.

Kein Stamm der drei Gruppen bildet Acetylmethylcarbinol. Unterschiedlich ist ihr Vermögen Nitrat zu reduzieren. Aus Gruppe A besitzen die Stämme 69/1 und 71/3 , aus Gruppe B keiner und aus Gruppe C fast alle, außer den Stämmen 57/6 und 73/4 diese Fähigkeit.

Urease-Aktivität zeigt nur der Stamm 30/1 aus der Gruppe C.

Aesculinhydrolyse läßt sich in Gruppe A nur bei Stamm 68/3 und in Gruppe C nur bei Stamm 52/6 nachweisen. Zur Spaltung von Hippurat sind dagegen alle Vertreter der drei Gruppen fähig. Lipolytische Aktivitäten besitzt nur der Stamm 52/7 aus der Gruppe C. Stärke hydrolysieren können nur die Stämme 52/6 und 52/7 aus Gruppe C. Kein Stamm war in der Lage, Gelatine zu verflüssigen, auch bei sechstägiger Bebrütung nicht. Ebenso kann keiner der untersuchten Keime Lysin decarboxylieren oder Indol bilden (s. Tabellen 7 und 8).

Auf Egg-yolk-Platten wachsen alle Keime. Lezithinase besitzen aus Gruppe A alle Keime außer Stamm 71/3, aus Gruppe B die Stämme 46/2 und 46/6 und aus Gruppe C die Stämme 40/4, 52/7, 57/6 und 73/4 (s. Tabelle 8).

Auf Blutagarnährböden, die Tellurit enthalten, wachsen die Keime vermindert, wobei aus der Gruppe A nur Stamm 69/1, aus Gruppe B nur Stamm 46/2 und aus Gruppe C nur die Stämme 52/7, 40/4 und 73/4 Tellurit nicht reduzieren können (s. Tabelle 8).

Empfindlich gegenüber 0,001% igem Lysozym sind nur die Stämme 40/4, 45/3 und 52/6 aus Gruppe C (s. Tabelle 8).

Größere Unterschiede zwischen den drei Gruppen gibt es bei der Säurebildung aus Kohlenhydraten. Wie bereits erwähnt, bauen die Stämme der Gruppen A und C Glucose fermentativ (Stamm 62/2 der Gruppe A nur oxydativ) ab, während die Vertreter der Gruppe B Glucose überhaupt nicht spalten. Alle zusätzlich untersuchten Kohlenhydrate werden von den Stämmen der Gruppe A nicht abgebaut. In der Gruppe B vermag nur der Stamm 42/1 Cellobiose, Glycerol, Mannit und Rhamnose im ASS-Medium abzubauen und das Medium anzusäuern. Die anderen drei Stämme sind zur Säurebildung aus Kohlenhydraten nicht fähig. Eine relativ größere Aktivität bei der Säurebildung aus Kohlenhydraten zeigen die Stämme der Gruppe C. Von keinem Stamm abgebaut werden Arabinose, Inosit, Lactose, Maltose, Melezitose,Melibiose, Raffinose, Rhamnose in Phenol-Red-Broth und Arabinose und Rhamnose im Basalmedium nach SMITH et al. (1952). Cellobiose wird von den Stämmen 52/7, 57/6 und 40/4, Fructose von 52/6 und 57/6, Galactose nur von 52/6, Glycerol von 45/3, 52/6 und 57/6, Lactose von 52/7, Mannit von 40/4, 52/6, 57/6 und 73/4, Rhamnose von 57/6, Ribose von 52/6, 52/7 und 57/6, Saccharose von 52/6 und 57/6, Salicin von 52/7 und

57/6, Trehalose von 52/6 und Xylose von Stamm 1/7 abgebaut. Die Säuerung durch Mannitabbau wurde bei Stamm 52/6, durch Lactoseabbau bei Stamm 52/7 und durch Rhamnoseabbau nur bei Stamm 57/6 in Phenol-Red-Broth nicht angezeigt (s. Tabellen 9,10 und 11).

Allgemein kann festgestellt werden, daß von allen untersuchten Isolaten nur die Stämme 52/6, 52/7 und 57/6 in gewissem Umfang fähig sind, Kohlenhydrate abzubauen. Wenig Unterschied besteht auch in der Kohlenhydratspaltung in den beiden Grundmedien. Offensichtlich bildeten die getesteten Stämme aus organischem Stickstoff nur in geringem Umfang basische Stoffwechselprodukte, so daß der Kohlenhydratabbau mit wenigen Ausnahmen in der Phenol-Red-Broth richtig angezeigt wurde.

Tabelle 5: Beurteilungskriterien in Anlehnung an COWAN & STEEL (1974)

	Stamm	Beweglichkeit	Wachstum aerob	Wachstum microaerob	Wachstum anaerob	Catalase	Cytochromoxydase	Säurebildung aus Glucose	O/F - Test
Gruppe A	62/2	-	+	+	-	+	-	+	O
	63/2	-	+	+	-	+	-	+	F
	68/3	-	+	+	-	+	-	+	F
	69/1	-	+	+	-	+	-	+	F
	70/6	-	+	+	-	+	-	+	F
	71/3	-	+	+	-	+	-	+	F
Gruppe B	42/1	-	+	+	-	+	-	-	-
	46/2	-	+	+	-	+	-	-	-
	46/6	-	+	+	-	+	-	-	-
	55/9	-	+	-	-	+	-	-	-
Gruppe C	1/7	-	+	+	-	+	-	+	F
	30/1	-	+	+	-	+	-	+	F
	40/4	-	+	+	-	+	-	+	F
	45/3	-	+	+	-	+	-	+	F
	52/6	-	+	+	-	+	-	(+)	F
	52/7	-	+	+	-	+	-	(+)	F
	57/6	+	+	+	-	+	-	+	F
	73/4	+	+	+	-	+	-	+	F

Tabelle 6: Wachstum bei verschiedenem NaCl-Gehalt und bei verschiedenen Bebrütungstemperaturen

		Wachstum bei				
	Stamm	7% NaCl	10% NaCl	10°C	45°C	65°C
Gruppe A	62/2	+	+	+	+	-
	63/2	+	+	+	+	-
	68/3	+	+	+	+	-
	69/1	+	+	+	-	-
	70/6	+	+	+	+	-
	71/3	+	+	+	-	-
Gruppe B	42/1	+	-	+	+	-
	46/2	+	+	(+)	+	-
	46/6	+	+	+	+	-
	55/9	+	-	+	+	-
Gruppe C	1/7	+	+	+	+	-
	30/1	+	+	+	+	-
	40/4	+	+	+	-	-
	45/3	+	+	+	+	-
	52/6	+	+	+	+	-
	52/7	+	-	+	+	-
	57/6	+	+	+	-	-
	73/4	-	-	+	-	-

Tabelle 7: Ergebnisse der biochemischen Untersuchungen I

	Stamm	Wachstum in Citrat (Koser)	Wachstum in Citrat (Christ.)	Voges Proskauer	Nitratreduktion	Aesculin	Hippurat	Tween 80	Urease
Gruppe A	62/2	-	-	-	-	-	+	-	-
	63/2	+	+	-	-	-	+	-	-
	68/3	+	+	-	-	+	+	-	-
	69/1	+	+	-	+	-	+	-	-
	70/6	+	+	-	-	-	+	-	-
	71/3	-	+	-	+	-	+	-	-
Gruppe B	42/1	+	+	-	-	-	+	-	-
	46/2	+	+	-	-	-	+	-	-
	46/6	-	+	-	-	-	+	-	-
	55/9	+	+	-	-	-	+	-	-
Gruppe C	1/7	+	+	-	+	-	+	-	-
	30/1	-	+	-	+	-	+	-	+
	40/4	+	+	-	(+)	-	+	-	-
	45/3	+	+	-	+	-	+	-	-
	52/6	-	-	-	+	+	+	-	-
	52/7	-	-	-	+	-	+	+	-
	57/6	+	+	-	-	-	+	-	-
	73/4	+	-	-	-	-	+	-	-

Tabelle 8: Ergebnisse der biochemischen Untersuchungen II

	Stamm	Hydrolyse von Stärke	Gelatineverflüssigung	Wachstum auf Egg yolk	Clearing von	Wachstum auf Tellurit	Reduktion von	Indolproduktion	Lysozymempfindl.
Gruppe A	62/2	-	-	+	+	(+)	+	-	r
	63/2	-	-	+	+	(+)	+	-	r
	68/3	-	-	+	(+)	(+)	+	-	r
	69/1	-	-	+	+	(+)	-	-	r
	70/6	-	-	+	(+)	+	+	-	r
	71/3	-	-	+	-	(+)	+	-	r
Gruppe B	42/1	-	-	+	-	(+)	+	-	r
	46/2	-	-	+	+	(+)	-	-	r
	46/6	-	-	+	+	(+)	+	-	r
	55/9	-	-	(+)	-	+	+	-	r
Gruppe C	1/7	-	-	+	-	+	+	-	r
	30/1	-	-	+	-	(+)	+	-	r
	40/4	-	-	+	(+)	(+)	-	-	s
	45/3	-	-	(+)	-	(+)	+	-	s
	52/6	+	-	(+)	-	(+)	+	-	s
	52/7	+	-	(+)	+	(+)	-	-	r
	57/6	-	-	+	+	(+)	+	-	r
	73/4	-	-	+	+	(+)	-	-	s

r = resistent s = sensibel

Tabelle 9: Kohlenhydratabbau in Gruppe A

Alle Isolate aus Kakadus

	62/2	63/3	68/3	69/1	70/6	71/3
Arabinose	-	-	-	-	-	-
Arabinose in ASS	-	-	-	-	-	-
Cellobiose	-	-	-	-	-	-
Fructose	-	-	-	-	-	-
Galactose	-	-	-	-	-	-
Glucose oxidativ	+	+	+	+	+	+
Glucose fermentativ	-	+	+	+	+	+
Glucose in ASS	+	+	+	+	+	+
Glycerol	-	-	-	-	-	-
Inosit	-	-	-	-	-	-
Lactose	-	-	-	-	-	-
Lactose in ASS	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-
Mannit	-	-	-	-	-	-
Mannit in ASS	-	-	-	-	-	-
Melezitose	-	-	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-	-
Rhamnose in ASS	-	-	-	-	-	-
Ribose	-	-	-	-	-	-
Saccharose	-	-	-	-	-	-
Salicin	-	-	-	-	-	-
Trehalose	-	-	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	-	-	-

Tabelle 10: Kohlenhydratabbau in Gruppe B

Alle Isolate aus Graupapageien

	42/1	46/2	46/6	55/9
Arabinose	-	-	-	-
Arabinose in ASS	-	-	-	-
Cellobiose	+	-	-	-
Fructose	-	-	-	-
Galactose	-	-	-	-
Glucose oxidativ	-	-	-	-
Glucose fermentativ	-	-	-	-
Glucose in ASS	-	-	-	-
Glycerol	+	-	-	-
Inosit	-	-	-	-
Lactose	-	-	-	-
Lactose in ASS	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-
Mannit	-	-	-	-
Mannit in ASS	+	-	-	-
Melezitose	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-
Rhamnose in ASS	+	-	-	-
Ribose	-	-	-	-
Saccharose	-	-	-	-
Salicin	-	-	-	-
Trehalose	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	-

Tabelle 11: Kohlenhydratabbau in Gruppe C

	1/7	30/1	40/4	45/3	52/6	52/7	57/6	73/4
	WS	AF	GP	GP	GP	GP	KP	K
Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
Arabinose in ASS	-	-	-	-	-	-	-	-
Cellobiose	-	-	+	-	-	+	+	-
Fructose	-	-	-	-	+	-	+	-
Galactose	-	-	-	-	+	-	-	-
Glucose oxidativ	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+
Glucose fermentativ	+	+	+	+	(+)	(+)	+	+
Glucose in ASS	+	+	+	+	+	+	+	+
Glycerol	-	-	-	+	+	-	+	-
Inosit	-	-	-	-	-	-	-	-
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-
Lactose in ASS	-	-	-	-	-	+	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannit	-	-	+	-	-	-	+	(+)
Mannit in ASS	-	-	+	-	+	-	+	+
Melezitose	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnose in ASS	-	-	-	-	-	-	+	-
Ribose	-	-	-	-	+	+	(+)	-
Saccharose	-	-	-	-	+	-	+	-
Salicin	-	-	-	-	(+)	+	+	-
Trehalose	-	-	-	-	+	-	-	-
Xylose	+	-	-	-	-	-	-	-

WS=Wellensittich AF=Agapornis fischeri GP=Graupapagei
KP=Kongopapagei K=Kakadu

4.2 Tierversuch

Die Pathogenitätstestung bei den SPF-Eintagsküken und den SPF-Junghähnen brachte keinerlei Hinweise auf krankmachende Eigenschaften. Sowohl die pathologisch-anatomischen Untersuchungen als auch die histologische Untersuchung der Leberpräparate verliefen negativ.

Die Keimrückisolation gelang nur bei Stamm 46/6 aus Gruppe B. Hier konnte 48 h post infectionem bei 6 Tieren der Keim aus Dottersackmaterial wieder rückisoliert werden. Nach vier Tagen konnte der Stamm bei einem Küken noch aus dem Dottersack und aus der Niere isoliert werden. Auch bei dieser Tiergruppe waren keine pathologischen Veränderungen festzustellen, deren Ursache auf den Keim zurückzuführen gewesen wäre.

Bei allen anderen Stämmen verlief der Versuch der Rückisolation ergebnislos.

5.0 DISKUSSION

Nach dem heutigen Stand der Bakteriologie sind die von SAILSTORFER (1979) aus den Nasenhöhlen von gesunden Psittaciformesarten isolierten und damals nicht näher differenzierten Keime dem Genus Bacillus zuzuordnen. Hauptkriterium dafür ist die Sporenbildung, die allerdings erst nach einjähriger Lagerung bei Kühlschranktemperatur nachweisbar war.

Bei zwei Stämmen konnte auch dann noch keine Sporenbildung nachgewiesen werden, so daß eine Zuordnung in das Genus Bacillus fraglich erscheint.

Da diese Bazillen sowohl aus Frischimporten als auch aus hier in Deutschland gezüchteten Tieren stammen, ist die Annahme erlaubt, daß sie keine Umweltkontamination darstellen, sondern zur Nasenflora der von SAILSTORFER (1979) untersuchten Psittaciformesarten gehören. Da die Kolonien auch auf Optimalnährböden nach 24 h nur relativ klein sind, können sie durch schneller wachsende Bazillen überwuchert werden, so daß sie als Komponente der autochthonen Flora nicht mit der wünschenswerten Regelmäßigkeit nachweisbar sind.

Inwieweit auch andere Vögel diese Bazillen auf der Nasenschleimhaut tragen, kann derzeit nicht beantwortet werden. RICHTER (1981) konnte sie bei seiner Untersuchung der Nasenflorakomponenten von Greifvögeln und Eulen nicht nachweisen. Warum ausgerechnet "psychrophile" Sporenbildner bei Tropenvögeln nachweisbar sind, entzieht sich vor-

läufig jeder Begründung.

Eine Zuordnung der 18 untersuchten Stämme zu den in der Literatur anerkannten Spezies ist nicht möglich. Aus morphologischen Gründen müssen sie der Gruppe I nach WOLF & BARKER (1968) zugerechnet werden. Die Spezies B. psychrosaccharolyticus, B. insolitus, B. globisporus und B. psychrophilus sind biochemisch wenig untersucht, bilden aber alle eine Cytochromoxydase. Der B. globisporus gehört außerdem zur Gruppe II nach WOLF & BARKER (1968). Die vier genannten Spezies sind zudem im Voges-Proskauer Test positiv. Die von LARKIN & STOKES (1967) beschriebenen vier Spezies sind beweglich, während im eigenen Material nur zwei Stämme diese Eigenschaft aufweisen. Von wesentlicher Bedeutung für eine Beurteilung einer möglichen Verwandtschaft mit drei der vier Spezies wäre auch die Zeitdauer, die für die Versporung bei Kühlschranktemperatur benötigt wird. Ein Jahr Beobachtungszeit für die eigenen Isolate ist eine sehr lange Zeit, die die Vermutung nahelegt, daß bei ähnlichen Stämmen die Bezeichnung asporogene Stämme geprägt wurde. Über diese sogenannten asporogenen Bazillenspezies gibt es in der Literatur noch weniger Angaben als über die "psychrophilen" Spezies, so daß keine Vergleiche möglich sind.
Alle Stämme zeigen vegetatives Wachstum bei 10^{o} C.

Zusätzlich auffällig war das Verhalten der untersuchten Bazillenstämme bezüglich der Toleranz reduzierter Sauerstoffspannung. Alle Stämme mit einer Ausnahme (s. Tabelle 5) wuchsen im Brewer-Topf nach Auspumpen auf 0,2 atm. und Wiederauffüllen mit Chaumette-Gas. Diese Restsauerstoffspannung wird sogar noch von einigen Clostridien toleriert. Diese Mikroaerophilie der Isolate steht in Übereinstimmung mit ihrer Fähigkeit Glucose, wenn überhaupt, fermentativ abzubauen. Die Ausnahme mit der oxydativen Glucoseverwertung (Stamm 62/2)

ist auch mikroaerophil. Dies Verhalten kann derzeit nicht erklärt werden.

Die hier untersuchten Bazillen sind teilweise in Flüssigkultur nur mit niedrigen Titern gewachsen (s. Tabelle 3). Bei anerkannten Spezies wie B. subtilis, B. cereus, B. coagulans, gibt es in Flüssigkulturen ein höhertitriges Wachstum. Da Difco-Heart-Infusion-Broth als Medium verwendet wurde, das als Optimalmedium gilt, muß entweder eine relative Serophilie oder ein relativer Mangel an einem anderen essentiellen Wuchsfaktor angenommen werden.

Die hier beschriebenen Bazillenstämme besitzen einige, laut Literatur ungewöhnliche, biochemische Eigenschaften. Nach McGAUGHEY & CHU (1948), CHU (1949) und BERGEY´S Manual (1974) zeigen nur B. cereus, B. mycoides und B. anthracis eine positive Egg-yolk-Reaktion. Von den 18 in dieser Arbeit untersuchten Stämmen können 11 Lezithinase produzieren, bilden jedoch keine Acetoin und bauen weder Stärke (Ausnahme: Stamm 52/7) noch Gelatine ab. Im Gegensatz zu den eben genannten Autoren können nach SEIDEL (1963) auch B. lentus, B. laterosporus, B. brevis und B. pantothenticus, wenn auch in geringerem Umfang, Lezithin spalten. Von dieser Spezies besitzt nur B. lentus eine Sporenform, die es erlaubt, ihn der morphologischen Gruppe I zuzuordnen. Die Untersuchungen über B. lentus sind wenig vollständig. Es wird jedoch von der Fähigkeit zur Stärkehydrolysierung und einem rein oxydativen Kohlenhydratabbau berichtet.

Die hier untersuchten Stämme wurden wegen relativer koloniemorphologischer und biochemischer Homogenität und teilweise wegen ihrer Herkunft von SAILSTORFER (1979) in drei Gruppen eingeteilt. Aufgrund der nun vorliegenden Untersuchungsergebnisse kann diese Ein-

teilung nur noch bedingt aufrechterhalten werden. Legt man außer der Besonderheit bei der Sporenbildung andere wichtige taxonomische Kriterien zugrunde, so könnte es sich um drei verschiedene Spezies handeln.

Gruppe B aus Graupapageien würde die erste Spezies repräsentieren mit fehlendem Glucoseabbau und Lysozymresistenz. Sie ist im Cytochromoxydasetest negativ. In Übereinstimmung mit der Variabilität bei anderen beschriebenen anerkannten Spezies, ist bei den vier Stämmen unterschiedliches Verhalten im Wachstum in 10% NaCl, in der Lezithinaseaktivität und im Kohlenhydratabbau festzustellen.

Eine zweite Spezies könnte durch Gruppe A und die Stämme 1/7, 30/1 und 57/6 der Gruppe C repräsentiert werden. Sie bauen Glucose mit einer Ausnahme (s. Tabelle 9) fermentativ ab, sind lysozymresistent und bilden keine Cytochromoxydase. Stamm 57/6 ist als einziger beweglich. Variabilität wird gesehen in folgenden Eigenschaften: Motilität, Citratverwertung, Wachstum bei verschiedenen NaCl-Konzentrationen und verschiedenen Bebrütungstemperaturen, Nitratreduktion, Aesculinhydrolyse und Kohlenhydratabbau.

Die restlichen Stämme der Gruppe C könnten ebenfalls eine eigene Spezies bilden. Davon stammen drei Stämme aus Graupapageien und der am meisten abweichende von einem Kakadu. Die Stämme verhalten sich im Gegensatz zu den vorher beschriebenen Keimen sensibel gegenüber Lysozym.

Um den Speziesstatus dieser drei beschriebenen Gruppen zu erstellen, sind zusätzliche Untersuchungen wie Wandanalyse und DNS-RNS-Bestimmungen notwendig.

Bei der Pathogenitätstestung in Hühnerküken konnten keine pathologisch-anatomischen und histologischen Läsionen verursacht werden und nach 48 h mit einer Ausnahme (Stamm 46/6) die Keime nicht mehr rückisoliert werden. Obwohl das Hühnerküken für diese Bazillen eine heterologer Wirt ist, dürfte in Übereinstimmung mit der Annahme, daß die meisten Bazillenspezies apathogen sind, geschlossen werden, daß diese Bazillen, auch bei Psittaciformesarten, keine Krankheitserreger sind. Wie bereits betont, werden sie als Komponenten der autochthonen Nasenschleimhautflora betrachtet und können als solche theoretisch bei entsprechenden Schleimhautläsionen oder hochgradigen Resistenzminderungen auch jenseits der Schleimhaut haften und sich vermehren.

Die teilweise niedrigen Infektionstiter könnten als Ursache für fehlende Ausbildung von Läsionen und für die negative Rückisolationsrate (Ausnahme: Stamm 46/6) angesehen werden. Da aber auch zweimal bei Infektionstitern von 2×10^8 keine Rückisolation gelang, darf geschlossen werden, daß dem Infektionstiter in dieser Versuchsanordnung keine entscheidende Rolle zukam.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die von SAILSTORFER (1979) aus der Nasenschleimhaut gesunder Psittaciformesarten isolierten Keime nach einjähriger Lagerung im Kühlschrank Sporen bildeten und daher als Bazillen differenziert werden konnten. Wegen ihrer biochemischen Besonderheiten sind sie keiner anerkannten Spezies zuzuordnen. Aufgrund ihres Verhaltens im Hugh-Leifson-Test und ihrer Lysozymempfindlichkeit ist es möglich, daß sie drei Spezies repräsentieren. Bei experimentellen Untersuchungen an Hühnerküken erwiesen sie sich als apathogen. Sie werden als Komponenten der autochthonen Nasenflora verschiedener Psittaciformesarten angesehen.

6.0 ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden 18 grampositive Bakterienstämme, die von SAILSTORFER (1979) aus der Nasenschleimhaut verschiedener Psittaciformesarten isoliert worden waren, näher untersucht.

Die Keime bilden nach Kühlschranklagerung von circa 1 Jahr Sporen und wurden deshalb dem Genus Bacillus zugeordnet und aufgrund der Sporenmorphologie der Gruppe I nach WOLF & BARKER (1968). Eine Einordnung in eine bekannte Spezies war nicht möglich. Die Gründe dafür werden diskutiert.

Die Ergebnisse der morphologischen und biochemischen Untersuchungen erlaubten die Aufstellung von drei Gruppen, die aufgrund ihres unterschiedlichen Verhaltens im Hugh-Leifson-Test und in der Lysozymempfindlichkeit möglicherweise einen eigenen Speziesstatus haben.

Eine Testung der Pathogenität durch experimentelle Infektion von Hühnereintagsküken und 6 Wochen alten Junghähnen ergab keinen Hinweis auf pathogene Eigenschaften.

6.0 SUMMARY

18 grampositive bacteria strains which have been isolated by SAILS-TORFER (1979) from the nasal mucosa of various psittaciforme bird species were examined in detail.

After storage for about one year at 4^{o} C the germs produced spores and therefore were classified into the Genus Bacillus and by means of the spore morphology into group I according to WOLF & BARKER (1968). The differentiation in a known species proved to be impossible, the reasons being discussed.

The results of the morphologic and biochemic examinations allowed the formation of three groups each of which might have species - status, according to their different reactions in the Hugh-Leifson test and lysozyme-sensibility.

Pathogenicity was tested by experimental infections of one day old chicks and 6 week old cockerels: No pathogen lesions were found.

7.0 LITERATURVERZEICHNIS

BERGEY´S Manual of Determinative Bacteriology (1974)
Eighth edition
The Williams and Wilkins Company, Baltimore

BERLINER, E. (1911)
Über die Schlaffsucht der Mehlmottenraupe
Zeitschr. ges. Getreidewesen 3, 63-70

BERLINER, E. (1915)
Über die Schlaffsucht der Mehlmottenraupe (Ephestia kühniella Zell.) und ihren Erreger Bacillus thuringiensis n. sp.
Zeitschr. angew. Ent. 2 , 29-56

BISPING, W. (1973)
Kompendium der veterinärmedizinischen Mikrobiologie
Teil II: Spezielle Mikrobiologie und Seuchenlehre
Verlag M. & H. Schaper, Hannover

BREWER, C.R., W.G. McCULLOUGH, R.C. MILLS, W.G. ROESSLER, E.J. HERBST and A.F. HOWE (1946)
Studies on the nutritional requirements of Bacillus anthracis
Arch. Biochem. 10 , 65

BUCHANAN, R.E.ST., R.JOHN-BROOKS and R.S.BREED (1948)
International bacteriological code of nomenclature
J.Bact. 55 , 287-306

BURDON, K.L. (1956)
Useful criteria for the identification of Bacillus anthracis and related species
J. Bact. 71 , 25-42

CHRISTENSEN, W.B. (1949)
Hydrogen sulfide production and citrate utilisation in the differentiation of the enteritic pathogens and coliform bacteria
Res. Bull., Weld County Health Dept. 1 , 3

CHU, H.P. (1949)
The Lecithinase of Bacillus cereus and its Comparison with Clostridium welchii α-toxin
J. Gen. Microbiol. 3 (2), 255-273

CLARK,F.E. and N.R. SMITH (1939)
Cultural requirements for the production of black pigments by bacilli
J. Bact. 37 , 277-284

COHN, F. (1872)
Untersuchungen über Bakterien
Beitr. Biol. Pflanz. 1875 1 (Heft 2), 127-224

COWAN, S.T. and K.J.STEEL (1974)
Manual for the Identification of Medical Bacteria
Second Edition
Cambridge University Press.

EHRENBERG, C.G. (1840)
Charakteristik von 274 neuen Arten von Infusorien
Ber. Bek. Verhandl., Königl. Preuss. Akad. 1840, 197-219

ELTER, B. (1966)
Beitrag zum Problem der Lebensmittelvergiftungen durch aerobe Sporenbildner
Z. ges. Hyg. 12 (Heft 1), 65-69

FORD, W.W. (1916)
Studies on aerobic sporebearing non-pathogenic bacteria
Part II. Miscellaneous cultures
J. Bact. 1 , 518-526

GIBSON, T.and L.E. TOPPING (1938)
Further studies on the aerobic sporeforming bacilli
Proc. Soc. agric. Bact. 1938, paper no.7, 43-44

GIBSON, T. (1944)
A study of Bacillus subtilis and related organisms
J. Dairy Res. 19 , 248-260

GLADSTONE, G.P. (1939)
Inter-relationships between aminoacids in the nutrition of B. anthracis
Brit. J. exp. Path. 20 , 189

GORDON, R.E., W.C. HAYNES and C.H-N. PANG (1973)
The Genus Bacillus
US Dept. Agr., Handbook No. 427

GOTTHEIL, O. (1901)
Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien
Zentralbl. Bakteriol. Parasitenk. Infektionskr. Hyg.
Abt. II, 7 , 430

HEELSBERGEN, T. (1929)
Handbuch der Geflügelkrankheiten
Utrecht 1929

HEIMPEL, A.M. and T.A. ANGUS (1958)
The taxonomy of insect pathogens related to Bacillus cereus Frankland and Frankland
Can. J. Microbiol., 4 , 531-541

HUGH, R. and E. LEIFSON (1953)
The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various Gram negative bacteria.
J. Bact., 66 , 24-26

ISHIWATA, S. (1901)
Dainihon Sanshi Kaiho, 9 (114), 1-5

IYER, V. and J. V. BHAT (1955)
Observations on the taxonomy of the genus Bacillus
Archiv f. Mikrobiol., 23 , 88-97

KNIGHT, B.C.J.G. and H. PROOM (1950)
A Comparative Survey of the Nutrition and Physiology of Mesophilic Species in the Genus Bacillus
J. Gen. Microbiol., 4 , 508-538

KOCH, R. (1881)
Zur Untersuchung von pathogenen Organismen
Mitt. a. d. Gesundheitsamte, 1 , 1 - 48

KOSER, S.A. (1923)
Utilization of the salts of organic acids by the colon-aerogenes group
J. Bact., 8, 493 - 520

KRIEG, A. (1961)
Bacillus thuringiensis, Berliner
Mitt. biol. Bundesanstalt Land- u. Forstw., Berlin Dahlem,
1961, 7-79

KUNDRAT, W. (1963)
Zur Differenzierung aerober Sporenbildner (Genus Bacillus Cohn)
Zbl. Vet.-med., B 10, 418-426

LARKIN, J.M. and J.L. STOKES, (1967)
Taxonomy of Psychrophilic Strains of Bacillus
J. Bact., 94 No. 4, 889-895

LAUBACH, C.A., J.L. RICE and W.W. FORD (1916)
Studies on aerobic spore-bearing non pathogenic bacteria I.
J. Bact., 1 , 273-316

LAWRENCE, J.S. and W.W. FORD (1916)
Studies on aerobic spore-bearing non pathogenic bacteria II.
J.Bact., 1 , 316ff

McGAUGHEY, C.A. and H.P. CHU (1948)
The Egg-Yolk Reaction of Aerobic Sporing Bacilli
J. Gen. Microbiol., 2 , 334-340

MEHIS, H.J. (1939)
Untersuchungen über die Bakterienflora im Verdauungs- und Geschlechtstraktus des Huhnes
Diss. med. vet., Berlin

O'MEARA, R.A.Q. (1931)
A simple delicate and rapide method of detecting the formation of acetylmethylcarbinol by bacteria fermenting carbohydrate.
J. Path. Bact., 34 , 401-406

PRICE, K.E., Z.ZOLLI, jr., W.B. HARDIE and J. GALLIAN (1957)
Respiratory tract flora in CRD and effect of antibiotic in the feed
Poultry Sci. , 36 , 219-225

PROOM, H. and B.C.J.G. KNIGHT (1955)
The Minimal Nutritional Requirements of Some Species in the Genus Bacillus
J. Gen. Microbiol., 15 , 474-480

RICHTER, T. (1981)
Untersuchungen über die Zusammensetzung der Nasenflora bei Greifvögeln und Eulen
Med.-Vet. Diss., abgegeben, München

ROLLE, M. und A. MAYR (1978)
Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre, 4. Auflage
F. Enke Verlag, Stuttgart

SAILSTORFER, R. (1979)
Untersuchungen über die Nasenflora bei einigen gesunden Psittaciformesarten
Vet.-Med. Diss., München

SEIDEL, G. (1963)
Die aeroben Sporenbildner unter besonderer Berücksichtigung des Milzbrandes
Beiträge zur Hygiene und Epidemiologie, Heft 17
Joh. Ambrosius Barth Verlag, Leipzig

SIERRA, G. (1957)
A simple method for detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates
Antonie van Leeuwenhoek, 23 , 15

SMIBERT, R.M., J.E. FABER and H.M. VOLT DE (1960)
Studies on air sac infection in poultry
II. Bacterial flora of the respiratory system of poultry associated with avian PPLO in natural case of aerosacitis
Poultry Sci. , 39 , 417-426

SMITH, N.R. and F.E. CLARK (1937)
A proposed grouping of the mesophilic, aerobic, spore-forming Bacilli
Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 2 , 255

SMITH, N.R., R.E. GORDON and F.E. CLARK (1946)
Aerobic mesophilic sporeforming bacteria
U.S. Dept. Agr. Misc. Pub. 559

SMITH, N.R., R.E. GORDON and F.E. CLARK (1952)
Aerobic sporeforming bacteria
Agriculture Monograph No. 16
U.S. Dept. Agr.

VOGES, O. und B. PROSKAUER (1898)
Beiträge zur Ernährungsphysiologie und zur Differentialdiagnose der Bakterien der haemorrhagischen Septicämie
Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr., 28 , 20-32

WINKLE, ST. (1955)
Mikrobiologische und serologische Diagnostik
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

WOLF, J. and A.N. BARKER (1968)
The Genus Bacillus: Aids to the Identification of its Species
In GIBBS and SHAPTON (Editors): Identification Methods for Microbiologists, Part B, No. 2, 93-109
Academic Press, London

LEBENSLAUF

Am 7. Juni 1950 wurde ich als Sohn des damaligen Landwirts Roman Hartmann und seiner Ehefrau Josefa, geborene Vogler, in Oberried geboren.

Von September 1956 bis Juli 1962 besuchte ich die Volksschule in Ollarzried und von September 1962 an das Carl-von-Linde-Gymnasium in Kempten. Dort machte ich im Juni 1971 mein Abitur.

Von Juli 1971 bis Dezember 1972 leistete ich den Wehrdienst bei der Bundeswehr ab.

Im Wintersemester 1972/73 immatrikulierte ich mich an der Ludwig-Maximilians-Universität München für ein Studium an der Chemischen Fakultät. Im Wintersemester 1973/74 wechselte ich dann an die Tierärztliche Fakultät über, wo ich im Dezember 1978 die tierärztliche Prüfung bestand. Die Approbation als Tierarzt erhielt ich am 7. Februar 1979.

Am 25. Oktober 1979 überließ mir Frau Prof. Dr. I. Gylstorff das Thema zur Anfertigung meiner Doktorarbeit.

Frau Prof. Dr. I. Gylstorff danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas, die ausgezeichneten Arbeitsbedingungen am Institut und die Förderung bei der Durchführung und Auswertung der Versuche.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. H. Gerlach für die jederzeit gern gewährte Anleitung und Unterstützung bei der Anfertigung meiner Arbeit.

Danken möchte ich auch allen Angehörigen des Instituts, besonders Frau Schneider, Frau Sextl, Frl. Lindner, Frl. Pittrich und Herrn Rodler für ihre freundliche Hilfsbereitschaft.